

令和 4 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03811

研究課題名(和文) 内臓脂肪の潜在能力：循環と免疫賦活におけるhyper 2-way player

研究課題名(英文) Potential abilities of visceral fat:circulation and immunity (hyper 2-way player)

研究代表者

山本 有平 (Yamamoto, Yuhei)

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：70271674

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年、局所のリンパ機能破綻に対するリンパ系再構築法としてさまざまな材料を用いた再建が報告されている。本研究では内臓脂肪の中でも免疫的に中心の役割を担うとされる大網に着目し、マウスを用いた動物実験モデルで検証を行った。
有茎組織弁として血流を保持した状態での移植を行う有茎大網移植モデルと、より侵襲の少ない遊離大網移植モデルを考案し、各群のリンパ系再構築に関する寄与を比較・検証した。結果いずれの群でもリンパ系の再構築を促進する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リンパ系において局所の循環・免疫的な機能が破綻すると、リンパ浮腫や易感染性を生じる。失われたリンパ節を他の所属リンパ節で再建する場合、ドナーサイトに同様の局所リンパ系機能が損なわれることになる。本研究によってリンパ節に代わる組織移植材料として、大網が有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Reconstruction using various materials has been reported as a method of physiologic surgical treatment of impairment of local lymphatic system. In this study, we focused on the omentum, which is considered to play a central role immunologically among visceral fat and verified it in an experimental animal model using mice.

We designed two models: a pedicled omentum transplantation model in which blood flow is maintained as a stemmed tissue valve, and a less invasive free omentum transplantation model, and compared and verified the contribution of each group to lymphatic reconstruction. The results suggest that both groups may promote lymphatic remodeling.

研究分野：形成外科

キーワード：内臓脂肪 循環・免疫系 大網・腸管膜 milky spot natural helper T細胞 機能的リンパ節移植法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

以前より縦隔炎などの重症感染症に対して大網の移植が行われてきた。近年ではリンパ浮腫に対しても大網移植が応用され、浮腫軽減やリンパ管炎の再発抑制効果が示されている。大網や腸間膜は内臓脂肪を多量に含むという特徴を有するが、これらの移植がもたらす臨床効果と脂肪組織の関わりについての詳細は不明である。

近年、大網や腸間膜の内臓脂肪中に 'milky spot' という免疫系を活性化する足場が存在すること、また 'natural helper T細胞' というリンパ球が存在することがわかってきた。そこで動物モデルを用いて、大網・腸間膜移植がもたらす感染制御・浮腫軽減効果を免疫・循環系の見地から証明し、これら組織移植のさらなる可能性を見出し、内臓脂肪組織の形成外科領域への応用を検証した。

2. 研究の目的

マウスを用いた大網移植モデルを確立し、移植組織がリンパ節の形態・機能に与える影響を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 血流を保持した大網の挙上、有茎大網弁移植モデルの作成

9週齢雄の C57BL/6N マウスを用いて、大網弁を挙上し、右頸部より大胸筋下の上大静脈に indocyanine green (ICG) を 5 μ L 静脈内注射した。赤外線観察カメラシステム PDE を用いて大網弁の蛍光造影を確認したのち、左膝窩リンパ節摘出部に移植する有茎大網弁移植モデルを作成した。術後4週まで1週ごとに後肢足蹠に ICG を皮下注射し、後肢のリンパ流を評価した。術後4週時点で本来のリンパ流が回復した場合に再疎通ありと判定した。また、術後4週目に左後肢足蹠に 2%パテントブルー溶液を皮下注射し、移植組織が染色された場合、移植組織へのリンパ流再疎通ありと判定した。

(2) 遊離大網移植モデルの作成

9週齢雄の C57BL/6N マウスを用いて、大網弁を採取し、右膝窩リンパ節摘出部に移植する遊離大網移植モデルを作成した。術後の評価は(1)と同様に行った。

(3) 有茎大網移植モデルと遊離大網移植モデルの比較

上記の2群について術後4週目時点での再疎通率を比較した。術後4週目に上記と同様の方法でパテントブルーによる移植組織の染色の観察後、その組織を摘出し、Hematoxylin-Eosin (HE) 染色および免疫組織化学染色で組織学的に評価・比較した。

4. 研究成果

(1) 血流を保持した大網の挙上、有茎大網弁移植モデル

挙上後の大網に蛍光造影を確認した。また、右胃大網動脈切断後も組織弁の末梢まで蛍光造影を確認でき、血流を保持していることを確認した。

左季肋下部、左鼠径部、左膝窩部に切開をおき、大網右側を切断して大網組織弁を挙上した。その後、鼠径部で腹腔内から皮下へ移動し、皮下を通して膝窩へ移動した。パテントブルーが集積することで同定したリンパ節を切除し、同部位に 10-0 ナイロンを用いて固定した。

・ ICG を用いたリンパ流評価

コントロール群(a群)では足蹠に注射した ICG が膝窩に流れ、蛍光画像として明瞭に描出された。術後1, 2, 3, 4週のいずれにおいても同様の画像が観察された。

膝窩リンパ節切除群では術後1, 2週目はコントロール群と同様に膝窩リンパ節が描出された。しかし、術後3週目以降は描出されなかった。これは切除された膝窩リンパ節を反映した結果と考えられた。また術後1週目からリンパ流が変化し、膝窩ではなく鼠径リンパ節が描出された。

大網移植により変化したリンパ流が回復した症例を再疎通例と判定した。

(2) 遊離大網移植モデルの作成

顕微鏡下に確認すると、足底に注入した色素はリンパ管を通り膝窩リンパ節領域に集積することが確認できた。集積を認めない症例を非再疎通例として判定した。

生着した症例では肉眼的に周囲脂肪組織と類似した所見を呈しする一方、生着しない症例では、組織は白色で硬く、色素の流入を認めなかった。色素集積の有無と肉眼所見はほぼ一致した。

(3) 有茎大網移植モデルと遊離大網移植モデルの比較

上記手法で作成したそれぞれのモデルについて、術後1週もしくは4週に組織を採取し、HE染色、免疫染色および real time PCR にて評価を行った。

詳細な実験結果については後日改めて報告する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北條正洋、前田 拓、石川耕資、大澤昌之、舟山恵美、山本有平.
2. 発表標題 新たなリンパ節移植動物モデルの開発 - 大綱を用いて.
3. 学会等名 第30回日本形成外科学会基礎学術集会、東京
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北條正洋、前田 拓、石川耕資、大澤昌之、舟山恵美、山本有平.
2. 発表標題 顕微鏡下マウスリンパ節移植モデルの開発 新たな材料を求めて.
3. 学会等名 第48回日本マイクロサージャリー学会学術集会、つくば
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北條正洋、前田 拓、石川耕資、大澤昌之、舟山恵美、山本有平.
2. 発表標題 リンパ系再構築における大綱を用いた新たなマウスモデルの検証.
3. 学会等名 第42回北大形成外科アカデミー、札幌
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	林 利彦 (Hayashi Toshihiko) (00432146)	旭川医科大学・大学病院・教授 (10107)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	舟山 恵美 (Funayama Emi) (10533630)	北海道大学・医学研究院・准教授 (10101)	
研究分担者	石川 耕資 (Ishikawa Kosuke) (60791374)	北海道大学・大学病院・助教 (10101)	
研究分担者	前田 拓 (Maeda Taku) (80813542)	北海道大学・医学研究院・助教 (10101)	
研究分担者	小山 明彦 (Oyama Akihiko) (70374486)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	
研究分担者	古川 洋志 (Furukawa Hiroshi) (00399924)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関